ریخت‌شناسی گلبول‌های قرمز لارو ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تتراپلویید

سالار درافشان[۱*]، امیر وفایی‌سعدی[۲] و علی نکوئی‌فرد[۳]

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۲۶

چکیده

هدف از این مطالعه، مقایسه‌ی برخی ناهنجاری‌های گلبولی در ماهیان قزل‌آلای‌رنگین‌کمان دیپلویید و تتراپلویید بود. به این منظور القای تتراپلوییدی با استفاده از شوک حرارتی ۲۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۵ ساعت-درجه پس از لقاح روی تخم‌های مولدین ایرانی صورت گرفت. تخم‌های لقاح یافته از همان دسته از مولدین، بدون اعمال شوک حرارتی، به عنوان گروه شاهد (دیپلویید) مد نظر قرار گرفتند. صحت القای پلوییدی با استفاده از مقایسه‌ی ابعاد گلبولی و نیز تعداد مناطق سازمان‌دهنده‌ی هستکی NOR تعیین شد. نتایج نشان داد که تتراپلوییدی منجر به افزایش معنی‌دار تمامی ابعاد گلبولی در قزل‌آلای‌رنگین‌کمان می‌شود ($P<۰/۰۵$). ناهنجاری ریختی در گلبول‌های قرمز تتراپلویید به طرز چشم‌گیری بیش‌تر از ماهیان دیپلویید بود ($P<۰/۰۵$). فراوان‌ترین انواع ناهنجاری‌های گلبولی شامل سلول با هسته‌ی در حال تقسیم (segmentation): ۸/۲٪، سلول در حال تقسیم (amitosis): ۴/۱٪، گلبول قرمز نارس یا نابالغ (immature cell): ۳/۸٪ و غشای ناقص حدود ۱٪ بود. افزایش نامتناسب ابعاد گلبولی، به همراه بروز انواع ناهنجاری‌های خونی، می‌تواند منجر به کاهش کارایی زیستی انواع تتراپلویید در مقایسه با ماهیان دیپلویید شود.

کلمات کلیدی: ناهنجاری، گلبول قرمز، تتراپلوییدی، قزل‌آلای‌رنگین‌کمان

مقدمه

در سال‌های اخیر، دست‌کاری کروموزومی آبزیان، خصوصاً انواع آزادماهیان جنبه‌ی تجاری به خود گرفته است (کیوان‌شکوه و درافشان ۱۳۸۹). القای پلی‌پلوییدی در آزادماهیان از جمله قزل‌آلای‌رنگین‌کمان عمدتاً به منظور تولید نتاج تریپلویید و استفاده از مزایایی هم‌چون عدم توسعه‌ی گنادی و عقیمی در مقایسه با انواع دیپلویید صورت می‌گیرد. با این وجود، سایر انواع دستکاری‌های کروموزومی نظیر ماده‌زایی، نرزایی یا تتراپلوییدی نیز در این گونه، مورد توجه قرار گرفته است (Hulata 2001). القای تتراپلوییدی اصولاً به منظور تولید گله‌های والد و آمیزش آن‌ها با انواع دیپلویید و در نهایت تولید نتاج تریپلویید به روش غیرالقایی صورت می‌گیرد. علاوه بر این، تتراپلوییدی می‌تواند به عنوان یک روش مهم در تولید ماهیان با سطوح دیگر پلوییدی مثل پنتا، هگزا، هپتاپلوییدی مورد استفاده قرار گیرد (Pandian and Koteesvaran 1998). اگر چه القای پلوییدی در آبزیان از سابقه‌ی نسبتاً طولانی در علوم شیلاتی برخوردار است؛ اما هم‌چنان یکی از زمینه‌های فعال مطالعاتی در این رشته محسوب می‌شود . به طوری که جنبه‌های مختلف دست‌کاری کروموزومی از بهینه‌سازی شوک در گونه‌های مختلف نظیر قزل‌آلای قهوه‌ای *Salmo trutta* (Preston et al. 2013) تا تأثیر پلوییدی بر مورفولوژی دستگاه گوارش (Peruzzi et al. 2013) یا کارایی تولید (Taylor et al. 2013, Walton et al. 2013) هم‌چنان مورد علاقه

[۱*] استادیار گروه شیلات، دانشکده‌ی منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان E-mail: sdorafshan@cc.iut.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده‌ی منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[۳] استادیار، موسسه‌ی تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج

محققین در سراسر جهان است. دست‌کاری کروموزومی در آبزیان معمولاً منجر به بروز تغییراتی در فیزیولوژی آن‌ها می‌شود که در این بین، تغییرات فیزیولوژیک انواع آبزیان تریپلویید خصوصاً آزادماهیان از سابقه‌ی مطالعاتی بیش‌تری برخوردار است (Benfey 1999, Tiwary et al. 2004). خون از جمله‌ی بافت‌هایی است که تغییرات وسیعی را به سبب القای پلوییدی نشان می‌دهد. این تغییرات عمدتاً به منظور تطابق بهتر آبزی با شرایط جدید محیط درونی یا بیرونی پدید می‌آید. تاکنون مطالعات زیادی در زمینه‌ی بروز تغییر شاخص‌های خون‌شناسی در انواع آبزیان دست‌کاری شده‌ی کروموزومی خصوصاً انواع تریپلویید در مقایسه‌ی با انواع دیپلویید منتشر شده است که از آن جمله می‌توان به افزایش ابعاد گلبولی، کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در ماهیان تریپلویید آزاد دریای خزر، *Salmo trutta caspius* (Dorafshan et al. 2008) و کاهش تعداد گلبول قرمز به همراه افزایش ابعاد آن و در نتیجه عدم تغییر هماتوکریت در قزل‌آلای-رنگین‌کمان (درافشان و همکاران ۱۳۸۸) اشاره کرد. علاوه بر این تغییرات، افزایش ناهنجاری‌های گلبولی در انواع آبزیان دست‌کاری شده کروموزومی خصوصاً آزادماهیان تریپلویید در مقایسه با انواع دیپلویید مورد توجه قرار گرفته است (Benfey 1999). این ناهنجاری‌ها عمدتاً شامل افزایش فراوانی گلبول‌های قرمز بدون هسته (Anucleated cell)، با هسته در حال تقسیم (Segmented nuclei)، موقعیت غیرطبیعی هسته (Dislocated nucleus)، وجود ریزهسته‌ها درون سیتوپلاسم (Micronucleus) یا سلول در حال تقسیم یا دمبلی شکل (Amitosis یا Pinched cell) است (Wlasow et al. 2004, Dorafshan et al. 2008). بروز این ناهنجاری‌ها می‌تواند در نهایت منجر به کاهش کارایی آبزی به منظور رشد یا بقاء خصوصاً تحت شرایط نامساعد پرورشی نظیر درجه‌ی حرارت بالا یا تراکم زیاد، شود (Befney 1999). علی‌رغم اهمیت این نوع ناهنجاری‌ها، تاکنون گزارشی در خصوص بروز یا افزایش حضور آن‌ها در اثر تتراپلوییدی منتشر نشده است. لذا هدف از این مطالعه، بررسی احتمال افزایش انواع ناهنجاری‌های گلبولی در سلول‌های قرمز خون قزل‌آلای‌رنگین‌کمان تتراپلویید در مقایسه با انواع دیپلویید به عنوان مهم‌ترین گونه‌ی ماهی پرورشی سردآبی در کشور است.

مواد و روش کار

این تحقیق در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری در یاسوج، وابسته به موسسه‌ی تحقیقات علوم شیلاتی کشور، اجرا شد. القای تتراپلوییدی بر تخم‌های لقاح یافته‌ی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان از گله‌ی ایرانی در شرایط دمای انکوباسیون ۱۱ درجه‌ی سانتی‌گراد، پس از طی ۶۵ ساعت-درجه از زمان لقاح با استفاده از شوک حرارتی ۲۸ درجه‌ی سانتی‌گراد، به مدت ۱۰ دقیقه القاء شد (وفایی‌سعدی ۱۳۸۹). گروه دیپلویید از همان گروه تخم‌های لقاح یافته، بدون اعمال شوک حرارتی مورد استفاده قرار گرفت. شرایط نگهداری در طی دوره‌ی انکوباسیون برای هر دو گروه یکسان و مطابق با شرایط قابل قبول پرورشی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان بود. در مرحله‌ی شنای فعال، تعداد ۳۰ قطعه لارو (میانگین وزنی حدود ۱۰۰ میلی‌گرم) از گروه تیمار شده با شوک حرارتی و تعداد ۲۰ قطعه از گروه شاهد به منظور تهیه‌ی گسترش خونی از طریق قطع ساقه‌ی دمی یا سر از ناحیه‌ی آبششی، مورد استفاده قرار گرفتند. تعیین صحت تتراپلوییدی از طریق محاسبه ابعاد گلبولی و نیز شمارش تعداد مناطق هستک‌ساز (NORs) بر اساس دستورالعمل ارایه شده توسط کلباسی و همکاران در سال ۱۳۸۲، صورت گرفت. به طور خلاصه، تصویربرداری از گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا با استفاده از میکروسکوپ نوری Nikon (Germany) صورت گرفت و ابعاد گلبولی با استفاده از نرم‌افزار Image tools نسخه ۳.۱ اندازه‌گیری شد. مساحت (S) یا حجم (V) هسته یا سلول گلبول قرمز با استفاده از روابط $S=a\times b\times \pi/4$ (Sezaki et al. 1977) و $V=[a/2]\times[b/2]^2\times \pi\times 4/3$ (Lemoine and Smith 1980) تعیین شد. در این روابط

a و b به ترتیب محور بزرگ یا کوچک هسته یا سلول هستند. جهت تعیین تعداد مناطق هستک‌ساز در لارو، ابتدا رشته‌های آبششی در محلول تثبیت کننده (متانول و اسید استیک سرد به نسبت ۳ به ۱) به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. سپس بافت آبشش در اسید استیک ۴۵ درصد به مخلوط هموژن تبدیل شد. چند قطره از مخلوط روی لام گرم (۵۰°C) ریخته شد. سپس لام‌ها با استفاده از محلول ژلاتینی (۲ درصد ژلاتین و ۱ درصد اسید فرمیک) و نیترات نقره (۴ گرم نیترات نقره در ۸ میلی‌لیتر آب مقطر) رنگ‌آمیزی شدند تا رنگ آن‌ها به قهوه‌ای طلایی تغییر کند. در نهایت نسبت به شمارش و ثبت تعداد مناطق هستک‌ساز در حداقل ۲۰ سلول هر نمونه اقدام شد. به منظور مقایسه‌ی ناهنجاری‌های گلبولی، مشاهده‌ی گسترش‌های خونی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ برابر صورت گرفت. برای هر نمونه، تعداد حدود ۱۰۰ گلبول مورد بررسی واقع شد. درصد کلی ناهنجاری گلبولی و درصد هر یک از انواع ناهنجاری‌ها به تفکیک نوع ناهنجاری ارایه شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای $SPSS_{15}$ انجام گرفت. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف ـ اسمیرنف سنجیده شد. برای مقایسه‌ی ابعاد گلبولی از آزمون ناپارامتری Mann-Whitney و برای مقایسه‌ی تغییر فراوانی ناهنجاری‌ها از آزمون مربع کای، Chi square استفاده شد.

نتایج

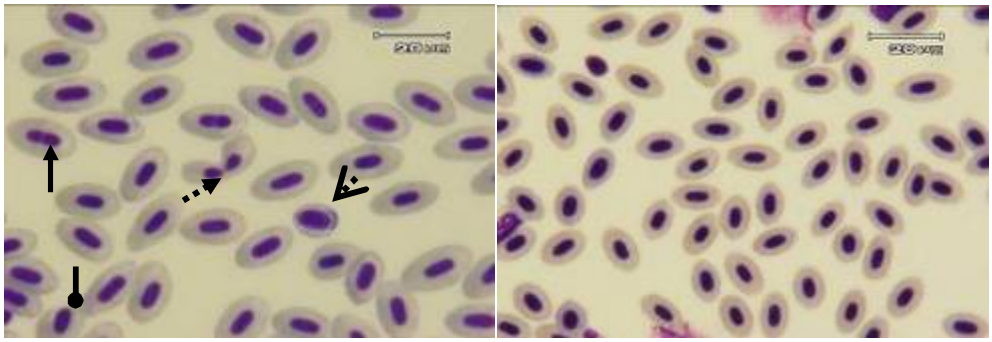
تتراپلوییدی، منجر به افزایش معنی‌دار در تمامی ابعاد گلبولی؛ نظیر محور بزرگ هسته و سلول، محور کوچک هسته و سلول، حجم و مساحت هسته و سلول شد (تصویر ۱، جدول ۱، P<۰/۰۵). محور بزرگ سلول و هسته به ترتیب ۱/۶۹ و ۱/۷۶ برابر در اثر تتراپلوییدی افزایش یافته بودند. در حالی که میزان افزایش برای محور کوچک سلول یا هسته کمتر و به ترتیب معادل ۱/۳۹ و ۱/۵۶ برابر بود. مساحت و حجم سلول در اثر تتراپلوییدی به ترتیب معادل ۲/۳۶ و ۳/۳۱ برابر افزایش یافت. این میزان افزایش برای مساحت و حجم هسته تا حدودی بیشتر و معادل ۲/۷۶ و ۴/۳۰ برابر محاسبه شد (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه‌ی ابعاد گلبول‌های قرمز قزل‌آلای‌رنگین‌کمان دیپلویید و تتراپلویید*

ویژگی (واحد)	دیپلویید (D)	تتراپلویید (T)	نسبت (T/D)
محور بزرگ سلول (μm)	۱۴/۰۷ ± ۰/۱۴	۲۳/۸ ± ۰/۱	۱/۶۹
محور کوچک سلول (μm)	۸/۵ ± ۰/۰۸	۱۱/۸ ± ۰/۰۶	۱/۳۹
مساحت سلول (μm^2)	۹۴/۱ ± ۱/۵	۲۲۲/۸ ± ۲/۲	۲/۳۶
حجم سلول (μm^3)	۵۳۷/۹ ± ۱۴/۲	۱۷۸۳/۱ ± ۳۰/۳	۳/۳۱
محور بزرگ هسته (μm)	۶/۲ ± ۰/۰۶	۱۱/۰۳ ± ۰/۰۷	۱/۷۶
محور کوچک هسته (μm)	۳/۷ ± ۰/۰۶	۵/۸ ± ۰/۰۳	۱/۵۶
مساحت هسته (μm^2)	۱۸/۵ ± ۰/۴	۵۱/۲ ± ۰/۶	۲/۷۶
حجم هسته (μm^3)	۴۷/۳ ± ۱/۸	۲۰۳/۸ ± ۳/۸	۴/۳۰

* اطلاعات به صورت mean±SEM و بر اساس مقایسه‌ی آماری با Mann-Whitney Test ارایه شده است. تمامی ابعاد گلبولی به طور معنی‌داری در اثر تتراپلوییدی افزایش یافتند (P<۰/۰۵).

تتراپلوییدی منجر به افزایش معنی‌دار ناهنجاری‌های گلبولی در قزل‌آلای‌رنگین‌کمان شد (جدول ۲، شکل ۱، P<۰/۰۵). مهم‌ترین انواع ناهنجاری گلبولی در انواع تتراپلویید شامل گلبول قرمز با هسته در حال تقسیم (*Segmented*) با فراوانی ۸/۲٪، سلول در حال تقسیم یا دمبلی شکل (*Amitosis*) با فراوانی ۴/۱٪، سیتوپلاسم ناقص با فراوانی حدود ۱٪ و گلبول قرمز نارس یا نابالغ (*Non-maturing cell*) با فراوانی حدود ۳/۸٪ بود (شکل ۱، جدول ۲). سایر انواع ناهنجاری‌ها نظیر موقعیت غیرطبیعی هسته، گلبول قرمز، بدون هسته یا وجود ریزهسته‌ها درون گلبول قرمز به ندرت مشاهده شد. تمامی انواع ناهنجاری‌های مورد اشاره در انواع دیپلویید نیز مشاهده شد با این وجود فراوانی آن‌ها به طور چشم-گیری نسبت به انواع دیپلویید کمتر و بسیار ناچیز، حدود ۱٪ بود (تصویر ۱، جدول ۲، *P*<۰/۰۵).



تصویر ۱: گلبول‌های قرمز در ماهیان دیپلویید (راست) و تتراپلویید (چپ) قزل‌آلای رنگین‌کمان. نکته: ابعاد بزرگتر گلبول‌های قرمز در ماهیان تتراپلویید در مقایسه با دیپلویید بارز است. فراوانی بیشتر ناهنجاری‌های گلبولی شامل سلول‌های با هسته (↑) یا سیتوپلاسم (↕) در حال دو نیم شدن، سلول‌های خونی نابالغ (↖) و سیتوپلاسم ناقص گلبول قرمز (↓) در انواع تتراپلویید به وضوح بیش‌تر است. مقیاس برابر ۲۰ میکرومتر.

جدول ۲: مقایسه‌ی ناهنجاری‌های ریختی گلبول‌های قرمز در ماهیان دیپلویید و تتراپلویید قزل‌آلای‌رنگین‌کمان

گلبول قرمز	درصد در دیپلویید	درصد در تتراپلویید
سالم	حدود ۹۹	۸۱/۹
هسته در حال تقسیم (Segmented)	۰/۳۵	۸/۲
سلول در حال تقسیم (Amitosis)	۰/۳۵	۴/۱
گلبول قرمز نارس (نابالغ) (Non-maturing cell)	۰/۱	۳/۸
سیتوپلاسم ناقص	۰/۱	۱
سایر انواع ناهنجاری	۰/۱	حدود ۱

بر اساس آزمون آماری با Chi square test، با افزایش سطح پلوییدی میزان ناهنجاری به طور معنی‌داری افزایش یافته است (P<۰/۰۵).

بحث

در این مطالعه از برخی ویژگی‌های ریختی گلبول‌های قرمز خون به منظور ارزیابی نتایج حاصل از القای تتراپلوییدی در قزل‌آلای‌رنگین‌کمان استفاده شد. بر اساس اطلاعات موجود، این اولین مطالعه در زمینه‌ی مقایسه‌ی بروز ناهنجاری‌های گلبولی در آبزیان در اثر القای تتراپلوییدی است. نتایج این تحقیق نشان داد که گلبول‌های قرمز خون انواع تتراپلویید قزل‌آلای‌رنگین‌کمان در مقایسه با انواع دیپلویید به طرز قابل ملاحظه‌ای

وسیع‌تر و حجیم‌تر هستند. این افزایش اندازه در هر دو محور کوچک و بزرگ سلول یا هسته مشاهده می‌شود، با این وجود افزایش ابعاد در محور بزرگ برای سلول یا هسته نسبت به محور کوچک آن بیشتر است که منجر به ایجاد شکل کشیده‌تر در گلبول‌های قرمز ماهیان تتراپلویید در مقایسه با انواع دیپلویید می‌شود. افزایش ابعاد گلبولی در اثر القای پلوییدی، تریپلوییدی یا تتراپلوییدی حالتی مرسوم است که عموماً به دلیل افزایش محتوای مواد وراثتی رخ می‌دهد. با این وجود همواره رابطه‌ی خطی مستقیم بین افزایش محتوای DNA سلول و ابعاد آن مشاهده نمی‌شود. به عنوان مثال در *Pomoxis annularis* دیپلویید، حجم گلبول‌های قرمز در حدود ۱۲۵ میکرومتر مکعب است در حالی که انتظار می‌رود در اثر تریپلوییدی افزایش حجمی حدود ۵۰٪ در حجم گلبولی پدید آید و حجم آن به ۱۸۷ میکرومتر مکعب برسد، گلبول‌های قرمز ماهی تریپلویید تنها ۲۶ میکرومتر مکعب افزایش حجم را نشان می‌دهند (Parsons 1993). در مقابل، در این تحقیق حجم سلولی حدود ۳/۳ برابر در اثر القای تتراپلوییدی افزایش یافت که از افزایش حجم دو برابری در اثر القای تتراپلوییدی بیش‌تر بود. تفاوت‌هایی هرچند جزئی، در مقادیر ابعاد گلبولی انواع دیپلویید و تتراپلویید قزل‌آلای-رنگین‌کمان در مقایسه با مطالعات پیشین نظیر کلباسی و همکاران در سال ۱۳۸۲ مشاهده شد. این تفاوت‌ها می‌تواند بنا به دلایل مختلفی نظیر وجود تفاوت ذاتی در اندازه‌ی ابعاد گلبولی بین افراد مختلف یک گونه، خطا در دقت اندازه‌گیری و یا وجود گلبول‌های قرمز نابالغ در گسترش خونی باشد (درافشان و همکاران ۱۳۸۸). اگر چه افزایش ابعاد گلبولی در اثر تتراپلوییدی امری محتمل است اما افزایش نامتقارن این مقادیر نظیر افزایش بیش‌تر حجم هسته در مقایسه با حجم سلول یا افزایش بیش‌تر حجم سلول یا هسته در مقایسه با مساحت آن ممکن است منجر به بروز اختلالاتی در قابلیت حمل اکسیژن و یا ظرفیت هوازی آبزی شود. کاهش نسبت سطح به حجم در انواع تتراپلویید نیز می‌تواند سبب اختلالاتی در قابلیت تبادل یونی یا جذب مواد مغذی توسط سلول‌ها شود. نظیر چنین اختلالاتی در آزادماهی اطلس *Salmo salar* تریپلویید مورد اشاره قرار گرفته است (Graham et al. 1985). نتایج این تحقیق بیانگر افزایش معنی‌دار ناهنجاری‌های ریختی در گلبول‌های قرمز انواع تتراپلویید در مقایسه با گروه شاهد دیپلویید بود. افزایش ناهنجاری-های گلبولی در انواع تریپلویید ماهیانی نظیر قزل‌آلای-رنگین‌کمان (جوهری ۱۳۸۴، سوری‌نژاد ۱۳۸۵)، ماهی آزاد دریای خزر (Dorafshan et al. 2008)، ماهی آزاد اطلس (O'keefe et al. 2000)، قزل‌آلای نهری *Salvelinus fontinalis* (Aktins et al. 2000, Wlasow et al. 2004)، تاس ماهی پوزه‌ی کوتاه *Acipenser brevirostrum* (Beyea et al. 2005) و توربوت (Cal et al. 2005) در مقایسه با انواع دیپلویید منتشر شده است. اما بروز چنین پدیده‌ای در تتراپلوییدها تاکنون مورد توجه قرار نگرفته است. تا کنون فرضیه‌های متعددی نظیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (Apoptosis)، تخریب غشای سلولی گلبول‌های قرمز بزرگ (تریپلویید یا تتراپلویید) در حین عبور از مویرگ‌های خونی و رهاسازی پیش از موعد گلبول‌های قرمز نابالغ از بافت‌های خون‌ساز به عنوان عامل اصلی بروز این پدیده مورد اشاره قرار گرفته است (O'keefe et al. 2000). علاوه بر این، کمبود اسید فولیک به عنوان یک عامل مؤثر در نسخه‌برداری DNA نیز می‌تواند در بروز ناهنجاری‌های گلبولی خصوصاً بروز گلبول‌های قرمز با هسته‌ی دو نیم شده (Segmentation) مؤثر باشد، مطالعات Smith در سال ۱۹۶۸ نشان داد که کمبود این ماده‌ی حیاتی در آزادماهی کوهو *Oncorhynchus kisutch* می‌تواند منجر به بروز ناهنجاری‌های شدید گلبولی شود. اگر چه اظهار نظر قطعی در خصوص عامل اصلی بروز ناهنجاری‌های گلبولی در ماهیان دستکاری شده کروموزومی خصوصاً انواع تریپلویید یا تتراپلویید نیازمند بررسی بیش‌تر است، اما شاید بتوان آن را با رهاسازی پیش از موعد گلبول‌های قرمز نابالغ در خون مرتبط دانست.

O'keefe و همکاران در سال ۲۰۰۰ و Aktins و همکاران در همان سال نشان دادند که در اثر حضور عوامل تنش‌زا، نظیر حمل و نقل (تراکم) یا دستکاری به ترتیب میزان گلبول‌های قرمز ناهنجار در خون ماهیان تریپلویید آزادماهی اطلس و قزل‌آلای نهری به شدت افزایش می‌یابد. آن‌ها بیان کردند که بروز تنش منجر به افزایش نیاز اکسیژنی ماهی شده و به سبب نارسایی محتمل گلبول‌های قرمز خون انواع تریپلویید، آبزی قادر به پاسخ به نیاز اکسیژنی خود به صورت مطلوب نیست. لذا برای جبران این نقیصه، اقدام به افزایش تعداد گلبول‌های قرمز از طریق رهاسازی بیش از حد آن‌ها از بافت‌های خون‌ساز می‌کند که خود منجر به افزایش حضور گلبول‌های قرمز ناهنجار در این ماهیان در مقایسه با انواع دیپلویید می‌شود. چنین فرایندی برای قزل‌آلای‌رنگین‌کمان تتراپلویید نیز محتمل است. شاید ماهیان تتراپلویید به سبب تغییر ابعاد گلبولی قادر به انتقال مطلوب اکسیژن خصوصاً در مواردی که نیاز اکسیژنی افزایش می‌یابد، نباشند، لذا برای جبران این نقیصه مجبور به رهاسازی پیش از موعد گلبول‌های قرمز درون خون شده که در نتیجه منجر به افزایش فراوانی ناهنجاری‌های گلبولی می‌شود. با این وجود، نتیجه‌گیری قطعی در این خصوص نیازمند بررسی بیشتر است.

در پایان می‌توان بیان داشت که تتراپلوییدی در قزل‌آلای‌رنگین‌کمان می‌تواند منجر به بروز تغییرات قابل توجه در برخی ویژگی‌های ریختی گلبول‌های قرمز شود. چنین تغییراتی ممکن است سلامت عمومی، رشد و یا بازماندگی ماهی را تحت شرایط پرورشی متأثر سازد و لذا شاید شرایط بهینه‌ی پرورشی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان تتراپلویید در مقایسه با گروه‌های دیپلویید تا حدودی متفاوت باشد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از تمامی پرسنل مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح‌نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج وابسته به موسسه‌ی تحقیقات علوم شیلاتی کشور به سبب همکاری‌های ارزنده‌ی ایشان در انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌نمایند. بخش اعظم هزینه‌های انجام این تحقیق از محل پژوهانه شماره‌ی ۵۰۲/۹۱/۲۵۲۴۸ پرداختی از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان تامین شده است.

منابع

جوهری، علی (۱۳۸۴). تولید و پرورش جمعیت تمام ماده‌ی دیپلویید و تریپلویید قزل‌آلای‌رنگین‌کمان، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده‌ی علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، صفحه ۸۰.

درافشان، سالار؛ کلباسی، محمدرضا؛ سلطان‌کریمی، ساحل و رحیمی، خسرو (۱۳۸۸). مطالعه‌ی برخی شاخص‌های خون‌شناسی ماهیان دیپلویید و تریپلویید قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصل‌نامه‌ی پزشکی یاخته، سال یازدهم، شماره‌ی ۴، صفحات ۴۴۲-۴۴۷.

سوری‌نژاد، ایمان (۱۳۸۵). مقایسه‌ی روند تکامل گنادی، رشد و کیفیت گوشت در ماهیان تمام ماده‌ی دیپلویید و تریپلویید قزل‌آلای‌رنگین‌کمان در سال دوم پرورش، پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد، دانشکده‌ی علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، صفحه ۸۶.

کلباسی، محمدرضا؛ باقری، علی؛ پورکاظمی، محمد و عبدالحی، حسین (۱۳۸۲). بررسی ایجاد ماهیان تتراپلویید قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به وسیله‌ی شوک گرمایی، مجله‌ی علمی شیلات، سال دوازدهم، شماره‌ی ۴، صفحات ۱۴۳-۱۵۲.

کیوان‌شکوه، سعید و درافشان، سالار (۱۳۸۹). زیست فناوری و ژنتیک در شیلات و آبزی‌پروری، تألیف آر بومونت و کی هور، انتشارات مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان، چاپ اول، صفحات ۱۳۷-۱۵۲.

وفایی‌سعدی، امیر (۱۳۸۹). بهینه‌سازی شوک حرارتی جهت القاء تتراپلوییدی در ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده‌ی منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان، صفحه ۶۶.

Aktins, M.E.; O'Keefe, R.A. and Benfey, T.J. (2000). The effect of exercise on the growth and hematology of diploid and triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture Association of Canada, 4: 19-21.

Benfey, T.J. (1999). The physiology and behavior of triploid fishes. Reviews in Fisheries Science 7: 39-67.

Beyea, M.M.; Benfey, T.J. and Kieffer, J.D. (2005). Hematology and stress physiology of juvenile diploid and triploid shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Fish Physiology and Biochemistry, 31: 303-313.

Cal, R.M.; Vidal, S.; Camacho, T.; Piferrer, F. and Guitian, F.J. (2005). Effect of triploidy on turbot haematology. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 141: 35-41.

Dorafshan, S.; Kalbassi, M.R.; Pourkazemi, M.; Amiri, B.M. and Soltan Karimi, S. (2008). Effects of triploidy on the Caspian salmon *Salmo trutta caspius* haematology. Fish Physiology and Biochemistry, 34: 195–200.

Graham, M.S.; Fletcher, G.L. and Benfey, T.J. (1985). Effects of triploidy on blood oxygen content of Atlantic salmon. Aquaculture, 50: 133-139.

Hulata, G. (2001). Genetic manipulation in aquaculture: a review of stock improvement by classical and modern technologies. Genetica, 111: 155-173.

Lemoine, H.L. and Smith, L.T. (1980). Polyploidy induced in brook trout by cold shock. Transaction of the American Fisheries Society, 109: 626-631.

O'Keefe, R.A.; Stillwell, E. and Benfey, T.J. (2000). The effect of transportation and handling on the hematology of diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*). Bulletin of the Aquaculture Association of Canada, 4:25-27.

Pandian, T.J. and Koteeswaran, R. (1998). Ploidy induction and sex control in fish. Hydrobiologia, 384: 167-243.

Parsons, G.R. (1993). Comparison of diploid and triploid white crappies (*Phoximus annularis*). Transaction American Fisheries Society, 122: 237-243.

Peruzzi, S.; Jobling, M.; Falk-Petersen, I.B.; Lein, I. and Puvanendran, V. (2013). Gut morphology of diploid and triploid Atlantic cod, *Gadus morhua*. Journal of Applied Ichthyology, 29: 1104-1108.

Preston, A.C.; Taylor, J.F.; Craig, B.; Bozzolla, P.; Penman, D.J. and Migaud, H. (2013). Optimization of triploidy induction in brown trout (*Salmo trutta* L.). Aquaculture, 414–415: 160–166.

Sezaki, K.; Kobayasi, H. and Nakamura, M. (1977). Size of erythrocytes in the diploid and triploid specimens of *Carassius auratus langsdorfi*. Japanese Journal of Ichthyology, 24:135-140.

Smith, C.E. (1968). Haematological changes in Coho salmon fed a folic acid deficient diet. Journal of Fisheries Research Board of Canada, 25: 151-156.

Taylor, J.F.; Sambraus, F.; Mota-Velasco, J.; Guy, D.R.; Hamilton, A.; Hunter, D. et al. (2013). Ploidy and family effects on Atlantic salmon (*Salmo salar*) growth, deformity and harvest quality during a full commercial production cycle. Aquaculture, 410-411: 41–50.

Tiwary, B.K.; Kirubagaran, R. and Ray, A.K. (2004). The biology of triploid fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 14: 391-402.

Walton, W.C.; Rikard, F.S.; Chaplin, G.I.; Davis, J.E.; Arias, C.R. and Supan, G.E. (2013). Effects of ploidy and gear on the performance of cultured oysters, *Crassostrea virginica*: survival, growth, shape, condition Index and Vibrio abundances. Aquaculture, 414-415: 260-266.

Wlasow, T.; Kuzminski, H.; Woznicki, P. and Ziomek, E. (2004). Blood cell alterations in triploid brook trout *Salvelinus fontinalis*. Acta Veterinarian Brno, 73: 115-118.

Morphology of red blood cells in tetraploid rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* larvae

Dorafshan, S.[1]; Vafaei Saadi, A.[2] and Nekoeifard, A.[3]

Received: 13.07.2013 Accepted: 17.12.2013

Abstract

The aim of this study was to evaluate some red blood cell abnormalities in diploid and tetraploid rainbow trout. Tetraploidy induction was done using heat shock 28°C for 10 min, starting at 65 degree-hour post fertilization on fertilized eggs from Iranian brood stock. Eggs from the same lot, without heatshock treatment were selected as control (diploid) group. Ploidy status was verified using red blood cell dimensions as well as the number of nucleular organizing regions in the cell. The results showed that tetraploidy increased all red blood cell dimensions in comparison to diploids ($P<0.05$). Red blood cell abnormalities were significantly higher in tetraploids compared to diploids ($P<0.05$). The most frequent cell abnormalities were segmentation of the nucleus, 8.2%; amitosis, 4.1%; immature cell 3.8% and cell with incomplete membrane about 1%. The imbalanced increase in red blood cell dimensions plus significant elevation in cell abnormalities would affect the tetraploid fish welfare and fitness in comparison to diploids.

Key words: Abnormality, Red blood cell, Tetralpoid, Rainbow trout

1- Assistant Professor, Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
2- MSc. Graduated, Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Shahid Motahhari Genetic and Breeding Center of Coldwater Fishes, Yasouj, Iran
Corresponding Author: Dorafshan, S., E-mail: sdorafshan@cc.iut.ac.ir